

# Yoğun bakım ünitesi hastalarından mini-bal kültürü ile izole edilen ventilatörle ilişkili pnömoni etkenleri ve çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları

## *Ventilator associated pneumoniae pathogens isolated from intensive care unit patients by mini-bal cultures and their antibiotic susceptibilities*

Banu Bayraktar<sup>1</sup>, Nuran Arslan Karabulut<sup>1</sup>, Emin Bulut<sup>1</sup>, Nursu Şahin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı, <sup>2</sup> Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul

İletişim / Correspondence: Banu Bayraktar Adres / Address: Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı Şişli, İstanbul E-mail: banu\_bayraktar@yahoo.com

### ÖZET

Bu prospektif çalışmada, yoğun bakım ünitesinde (YBÜ) mini-bronkoalveolar lavaj (mini-BAL) yöntemiyle incelenen örneklerden izole edilen ventilatörle ilişkili pnömoni (VİP) etkenleri ile bu etkenlerin kolonize bakterilerden ayrımı, tür dağılımı ve çeşitli antibiyotiklere duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Şubat 2005-Haziran 2005 tarihleri arasında 16 YBÜ hastasından alınan 64 mini-BAL örneğinden 41 suş izole edilmiştir. *Acinetobacter* spp. ve *Pseudomonas aeruginosa* en sık üreyen mikroorganizmalar olmuştur. *P. aeruginosa* için en etkili antibiyotiklerin amikasin (%83), seftazidim (%67), siprofloksasin (%67), sefepim (%58) ve piperasilin-tazobaktam (%58) olduğu; *Acinetobacter* türlerinin çoklu antibiyotik direnci gösterdiği, en etkili olan antibiyotiğin netilmisin (%73) olduğu görülmüştür. Antibiyotiklere karşı görülen yüksek direnç oranları, VİP olgularının ampirik tedavisinin sürekli güncellenmesi gerektiğini düşündürmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Ventilatörle ilişkili pnömoni, VİP, Mini-BAL, kantitatif kültür

### SUMMARY

The aim of this prospective study was to determine the ventilator-associated pneumoniae (VAP) pathogens isolated from mini-bronchoalveolar lavage (mini-BAL) samples obtained from patients in intensive care unit (ICU); to distinguish them from colonizing bacteria; to determine the micro-organisms distribution and their susceptibilities to several antibiotics in ICU. Totally 41 strains were isolated from 64 mini-BAL samples obtained from 16 patients in ICU between February 2005 and June 2005. *Acinetobacter* spp and *Pseudomonas aeruginosa* were the most frequently isolated species from mini-BAL samples. Antimicrobials which show the highest susceptibility rates for *P. aeruginosa* were as follows: the amikasin (83%), ceftazidime (67%), ciprofloxacin (67%), cefepime (58%), piperacillin-tazobactam (58%); *Acinetobacter* strains were highly resistant to all available antimicrobials and netilmicin (73%) susceptibility rate was the highest among them. High resistance rates for antibiotics suggested that the treatment of the empirical antibiotics recommended for VAP cases should be updated according to the surveillance data.

**Key words:** Ventilator associated pneumoniae, VAP, Mini-BAL, quantitative culture

### GİRİŞ

Ventilatörle ilişkili Pnömoni (VİP), yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) sık görülen ve mortalitesi yüksek olan bir hastane infeksiyonudur (1,2). Ventilasyon uygulanan hastaların solunum

sisteminde bakteri kolonizasyonuna sık rastlanmakta ve kolonizasyon sonrasında infeksiyon gelişme riski anlamlı oranda artmaktadır. VİP'te mortalite, hastaya ve etkene bağlı olarak değişmekle birlikte ortalama olarak %25 civarında

dır. Etken *P.aeruginosa* ya da *A.baumannii* gibi bakteriler olduğunda mortalite % 50'lere ulaşabilmektedir (3).

Erken tanı ve doğru tedavi VİP' te hayat kurtarıcıdır (1). VİP tanısı için klinik ve radyolojik bulgular tek başına yeterli olmamakta, tanının mikrobiyoloji verileriyle desteklenmesi gerekmektedir (4). Mikrobiyoloji laboratuvarında yapılacak incelemeler için bronkoskopik, nonbronkoskopik veya endotrakeal aspirasyon yöntemleriyle elde edilen solunum yolu örnekleri kullanılmaktadır. İnvaziv bir yöntem olan bronkoskopi ile distal solunum sekresyonlarının alınması mümkündür, ancak bronkoskop kullanılmaksızın alt solunum yollarından örnek elde edilebilen kör yöntemlerin kullanımı da kabul görmüştür (1,2). Mini-bronkoalveolar lavaj (mini-BAL) bu kör yöntemlerden bir tanesidir (5). Alınan örneklerin kantitatif kültürü mekanik ventilasyon uygulanan hastalarda infeksiyon ve kolonizasyon arasındaki mikrobiyolojik ayrımının yapılmasında önem taşımaktadır (6).

Bu çalışmada, yoğun bakım ünitesinde mekanik ventilasyon uygulanan olguların mini-BAL örneklerinden kantitatif kültür ile izole edilen VİP etkenleri ile bu etkenlerin kolonizan bakterilerden ayrımı, tür dağılımı ve çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları araştırılmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda, Şubat 2005-Haziran 2005 tarihleri arasında YBÜ'de yatmakta olan 16 hastadan mini-BAL yöntemiyle toplanmış 64 örnek değerlendirilmeye alınmıştır. Mini-BAL örneklerinin toplanması için; 50-58 cm uzunluğunda bir dış ve bir iç kateterden oluşan, distal ucunda polietilen glikol (PEG) tıkaç bulunan steril bir kateter (Combicath Plastimed, Saint-Leu-La-Forêt, France) kullanılmıştır. Bu kateter, bronkoskop kullanılmadan entübasyon tüpü ya da trakeostomi kanülü içerisine yerleştirilerek distal hava yollarına itilmiş ve uçtaki tıkaç bir miktar hava ile

atılmıştır. 8 cm daha uzun olan iç kateter, dış kateter içerisinden ilerletildi ve sonrasında enjektör yardımıyla 20 ml serum fizyolojik verilip aspirasyonla yaklaşık 2-3 ml örnek toplanmıştır. Mini-BAL yöntemiyle toplanan örnekler, en kısa sürede klinik mikrobiyoloji laboratuvarına ulaştırılmıştır.

Gelen örnekler, Gram boyama ve kantitatif kültür yapılmak üzere işleme alınmıştır. Gram boyamanın değerlendirilmesinde; her mikroskopik alan başına (X1000 büyütmede) polimorf nüveli lökosit (PNL) sayısına göre, 1+ (1-2 PNL), 2+ (2-5 PNL), 3+ (5-10 PNL), 4+ (>10 PNL) olarak derecelendirilmiştir (7). Kültür için, örnekler öncelikle 1dk vortekslenmiştir. Steril serum fizyolojik ile  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  ve  $10^{-3}$  oranlarında seyreltilerek koyun kanlı, çikolata ve MacConkey besiyeri 0,01 ml ekim yapılmıştır. 37°C de 24 saat etüvde bekletilmiştir. Üreyen bakteriler kantitatif olarak değerlendirilmiştir. Koloni sayısı  $\geq 10^4$  CFU/ml olan üremeler klinik açıdan anlamlı olarak değerlendirilmiştir (5,8,9,10). Aynı kültürde farklı bakteri türleri izole edildiğinde, her bir türün koloni sayımı ayrı ayrı yapıp  $\geq 10^4$  CFU/ml olanlar antibiyotik duyarlılık deneyi yapılmıştır. Koloni sayısı  $< 10^4$  olan üremeler kolonizasyon olarak değerlendirilmiştir. Tüm suşlar konvansiyonel yöntemler ve gerektiğinde BBL Crystal identifikasyon kitleri (Becton Dickinson, Maryland USA) kullanılarak isimlendirilmiştir. Antibiyotik duyarlılık testleri Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI) önerilerine uygun olarak disk difüzyon yöntemi ile yapılmıştır (11).

## BULGULAR

64 mini-BAL kültürünün 34 (%53)'ünde  $\geq 10^4$  CFU/ml üreme olmuştur.  $10^4$  CFU/ml altında olan üremeler kolonizasyon olarak değerlendirilmiştir. 12 örnekte birden fazla patojen izole edilmiştir. Aynı hastaya ait tekrarlayan suşlar çalışma kapsamına alınmamıştır. Çalışma kapsamına alınan 41 suşun tür dağılımları Tablo 1'de gösterilmiştir. İzole edilen mikroorganiz-

malar arasında ilk sırayı *Acinetobacter spp.* (%37) alırken, bunu *P. aeruginosa* (%29) ve *S.aureus* (%20) izlemiştir. *Acinetobacter* izolatlarından 13'ü *A.baumannii* olarak tanımlanmıştır. En sık izole ettiğimiz *Acinetobacter spp.* ve *P. aeruginosa* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları Tablo 2'de verilmiştir. MRSA (n:4) izolatlarının tümü kinolonlara (siprofiloksasin, levofloksasin), trimetoprim-sulfometaksazol, gentamisin ve amikasine dirençli bulunmuştur. Duyarlı olarak saptanan tek aminoglikozid netilmisindir. Bu suşlarda glikopeptid (vankomisin, teikoplanin) direncine rastlanmamıştır. MSSA (n:4) izolatları ise denenen tüm kinolonlara, aminoglikozidlere, glikopeptidlere ve trimetoprim-sulfometaksazole duyarlı bulunmuştur.

## TARTIŞMA

VİP, yoğun bakım birimlerinde mekanik ventilasyonlu hastalarda görülen en önemli infeksiyondur. Yüksek mortalite ile giden bu ciddi infeksiyonda etiyolojik tanı konularak uygun antimikrobiyal tedaviye erken başlanması prognozu belirleyen önemli bir faktördür (12,13). Tanı için klinik bulgular ve radyolojik değişiklikler yeterli olmamakta ve beraberinde mikrobiyolojik verilere de ihtiyaç duyulmaktadır (4). Akciğer biopsi ve otopsi örneklerinden yapılan histolojik inceleme ve kültür altın standart olarak kabul edilmekle birlikte bu örneklerin elde edilmesi güçtür (1,8). VİP'in mikrobiyolojik tanısında korunmuş fırça yöntemi, bronkoalveolar lavaj, mini-BAL, endotrakeal aspirasyon vb. invaziv ya da invaziv olmayan yöntemlerle alınan örnekler kullanılmaktadır. Bu örneklerin mikrobiyolojik olarak incelenmesi tanı ve tedavide yol gösterici olmaktadır (14). Mini-BAL, uygulama kolaylığı, minimum girişim gerektirmesi, bronkoskopik yöntemlere göre maliyetinin düşük olması ve tekrarlanabilme kolaylığından dolayı tercih edilen bir yöntemdir (1,2). VİP'in mikrobiyolojik tanısında en önemli sorun, kolonize olan bakterilerin infeksiyon etkenlerinden ayrılmasının güçlüğüdür. Kantitatif kültür yöntemleri, bu ay-

rımın yapılmasında etkili bulunmuştur (6,8,15,16). Amerikan Toraks Cemiyeti, VİP'in mikrobiyolojik tanısı için bronkoskopik, non-bronkoskopik veya endotrakeal aspirasyon yöntemleriyle toplanan örneklerin kantitatif kültürünü önermektedir (16). Mini-BAL kantitatif kültürü için  $10^4$  CFU/ml üremeyi sınır değer kabul eden çalışmalar; yöntemin duyarlılık ve özgüllüğünü sırasıyla %36-83; %80-92 olarak bildirmiştir. Eşik değeri  $10^3$  CFU/ml olarak kabul eden çalışmalarda ise yöntemin duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla % 50-80; %66-86 olarak belirlenmiştir (5,8,15).

Ülkemizde VİP etkenleri ile ilgili yapılan çalışmalarda, merkezler arasında farklılık göstermekle beraber sıklıkla *P. aeruginosa*, *Acinetobacter spp.*, MRSA ve *Klebsiella pneumoniae* gibi bakterilerin üretildiği bildirilmiştir (14). Dikmen ve ark. (3) endotrakeal aspirat örneklerinin kantitatif kültür sonuçlarını değerlendirdikleri çalışmalarında en sık VİP etkeni olan mikro-organizmaları; *A.baumannii* (%38), *P. aeruginosa* (%14) ve MRSA (%11) olarak saptamışlardır. Yurtdışında VİP etkenleriyle ilgili farklı solunum yolu örnekleri kullanılarak yapılan çalışmalarda, *Acinetobacter* ve *Pseudomonas* türleri en sık izole edilen mikroorganizmalar olarak bildirilmiştir (12,15). Çalışmamızda izole edilen suşların %73'ünü Gram negatif bakterilerin oluşturduğu ve en sık izole edilen mikroorganizmaların *Acinetobacter spp* (%37) ve *P. aeruginosa* (%29) olduğu tespit edilmiş, sonuçların yurtiçi ve yurtdışı yayınlara uyumlu olduğu görülmüştür.

Antibiyotiklere direnç oranlarının YBÜ'de yüksek olduğu bilinmektedir. Bu ünitelerde geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın kullanılması sonucu dirençli bakteriler seleksiyona uğramaktadır. Bunun sonucunda, çoğul dirençli patojenlere bağlı YBÜ infeksiyonları sık görülmektedir (14). En sık karşılaşılan bakteriler olan *Acinetobacter* ve *Pseudomonas* türleri, gittikçe artan direnç nedeniyle büyük bir sorun oluşturmaktadır. Uzel ve ark. (17) *P. aeruginosa* için

amikasin (%70) ve imipenem (%62); *Acinetobacter spp.* için imipenem (%96), netilmisin (%83) ve sefoperazon-sulbaktam (%58)' in en etkili antibiyotikler olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda *P. aeruginosa* için en etkili antibiyotiklerin amikasin (%83), seftazidim (%67), siprofloksasin (%67), sefepim (%58) ve piperasilin-tazobaktam (%58) olduğu; *Acinetobacter* türlerinin çoklu antibiyotik direnci gösterdiği, en etkili olan antibiyotiğin netilmisin (%73) olduğu görülmüştür. Ayrıca *Acinetobacter spp.* suşlarının tümü karbapenemlere dirençli, *P.aeruginosa* suşlarından ise yalnızca iki tanesi karbapenemlere duyarlı bulunmuştur. Bu sonuçlar hastanemizdeki karbapenemlerin ampirik tedavide güvenle kullanılmayacağını göstermektedir. Farklı merkezler arasındaki direnç farklılıkları doğal olup her hastanenin kendi florasını ve direnç paternlerini takip etmesi ve ampirik tedavi protokollerinin bu verilere göre düzenlenmesi ve güncellenmesi gerekmektedir.

Sonuç olarak; uygulama kolaylığı sunan ve tekrarlanabilir bir yöntem olan mini-BAL ile elde edilen örneklerin kantitatif kültürleri, uygun antibiyotik seçimi konusunda klinisyene yol gösterici olabilir. Bu çalışmada VİP etkeni bakteriler içerisinde Gram negatif mikroorganizmaların daha sık olduğu saptanmıştır. Sonuçlarımız VİP olgularında ampirik olarak önerilen antibiyotik tedavilerinin bu tür çalışmaların sonuçları dikkate alınarak güncelleştirilmesi gerektiğini düşündürmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Sirvent JM, Vidaur L, Gonzalez S, Castro P, Batlle J, Castro A, Bonet A: Microscopic examination of intracellular organisms in protected bronchoalveolar mini-lavage fluid for the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Chest* 2003; 123: 518.
2. Flanagan PG, Findlay GP, Magee JT, Ionescu AA, Barnes RA, Smithies MN: The diagnosis of ventilator-associated pneumonia using non-bronchoscopic, non-directed lung lavages. *Intensive Care Med* 2000; 26: 20.
3. Dikmen Y, Aygün G, Öztürk R: Yoğun bakım ünitesinde ventilatörle ilişkili pnömonilerin değerlendirilmesi. *KLİMİK Derg* 2004; 17: 117.

4. Şardan YÇ: Hastane kökenli pnömonilerde laboratuvar yöntemlerinin akılcı kullanımı. *ANKEM Derg* 2005; 19: 28.
5. Campbell GD: Blinded invasive diagnostic procedures in ventilator-associated pneumonia. *Chest* 2000; 117: 207.
6. Eldere JJV: Microbiology and the diagnosis and treatment of ventilator-associated pneumonia. *Rev Med Microbiol* 2004; 15: 119.
7. Bergmans DCJJ, Bonten MJM, Leeuw PW, Stobberingh EE: Reproducibility of quantitative cultures of endotracheal aspirates from mechanically ventilated patients. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 796.
8. Fujitani S, Yu VL: Diagnosis of ventilator-associated pneumonia: Focus on nonbronchoscopic techniques (Nonbronchoscopic bronchoalveolar lavage, including mini-BAL, blinded protected specimen brush and blinded bronchial sampling) and endotracheal aspirates. *J Intensive Care Med* 2006; 21: 17.
9. Ceylan E, İtil O, Arı G, Ellidokuz H, Uçan ES, Akkoçlu A: İç hastalıkları yoğun bakım ünitesinde izlenmiş hastalarda mortalite ve morbiditeyi etkileyen faktörler. *Toraks Derg* 2001; 2: 6.
10. Marik PE, Careau P: A comparison of mini-bronchoalveolar lavage and blind-protected specimen brush sampling in ventilated patients with suspected pneumonia. *J Crit Care* 1998; 13: 67.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI Document M100-S15. Wayne, 2005; PA: CLSI.
12. Stefanov C, Uchikov A, Rosen D: A comparison of the efficiency of treatment with imipenem/cilastatin, ceftazidime and piperacillin/tazobactam in patients with ventilator-associated pneumonia. *Turkish Respira* 2005; 6: 67.
13. Woske HJ, Röding T, Schulz I, Lode H: Ventilator-associated pneumonia in a surgical intensive care unit: epidemiology, etiology and comparison of three bronchoscopic methods for microbiological specimen sampling. *Critical Care* 2001; 5: 167.
14. Demirdağ K, Cihangiroğlu M, Yüce P, Özden M, Kalkan A: Mekanik ventilasyon desteği alan hastaların trakeal aspirat örneklerinden izole edilen bakteriler ve antibiyotik duyarlılıkları. *KLİMİK Derg* 2003; 16: 68.
15. Bregeon F, Papazian L, Thomas P, et al: Diagnostic accuracy of protected catheter sampling in ventilator-associated bacterial pneumonia. *Eur Respir J* 2000; 16: 969.
16. Rajasekhar T, Anuradha K, Suhasini T, Lakshmi V: The role of quantitative cultures of non-bronchoscopic samples in ventilator associated pneumonia. *Indian J Med Microbiol* 2006; 24: 107.
17. Uzel S, Çağatay AA, Özsüt H, Eraksoy H, Dilmener M: Yoğun bakım biriminde ventilatörle ilişkili pnömoni etkeni olabilecek bakteriler ve antibiyotiklere duyarlılıkları. *KLİMİK Derg* 1999; 12: 60.